

L1 ANSWER 1 OF 1 WPINDEX COPYRIGHT 2003 THOMSON DERWENT on STN
 ACCESSION NUMBER: 1984-213521 [35] WPINDEX
 DOC. NO. CPI: C1984-089735
 TITLE: Cardiovascular medicaments - contg. ubiquinone and
 carnitine or acetyl-carnitine.
 DERWENT CLASS: B05
 INVENTOR(S): BERTELLI, A
 PATENT ASSIGNEE(S): (SEUR-N) SEUREF AG; (SIGT) SIGMA-TAU IND FARM RIUNITE SPA
 COUNTRY COUNT: 11
 PATENT INFORMATION:

PATENT NO	KIND	DATE	WEEK	LA	PG
BE 898918	A	19840816	(198435)*		9
GB 2137088	A	19841003	(198440)		
SE 8400851	A	19840917	(198440)		
NL 8400488	A	19840917	(198441)		
DE 3405581	A	19841018	(198443)		
DK 8400722	A	19840817	(198446)		
FR 2543827	A	19841012	(198446)		
JP 59186914	A	19841023	(198448)		
GB 2137088	B	19860205	(198606)		
CH 655005	A	19860327	(198617)		
US 4599232	A	19860708	(198630)		
SE 457143	B	19881205	(198851)		
IT 1170235	B	19870603	(198949)		
JP 02007572	B	19900219	(199011)		
DE 3405581	C	19921022	(199243)		4
NL 192778	B	19971001	(199744)		4

APPLICATION DETAILS:

PATENT NO	KIND	APPLICATION	DATE
BE 898918	A	BE 1984-898918	19840216
GB 2137088	A	GB 1984-3668	19840213
NL 8400488	A	NL 1984-488	19840215
DE 3405581	A	DE 1984-3405581	19840216
FR 2543827	A	FR 1984-2347	19840216
JP 59186914	A	JP 1984-26179	19840216
US 4599232	A	US 1984-578588	19840209
DE 3405581	C	DE 1984-3405581	19840216
NL 192778	B	NL 1984-488	19840215

PRIORITY APPLN. INFO: CH 1983-858 19830216



PATENTVERKET

(44) Ansökan utlagd och utlägg- 88-12-05
ningsskriften publicerad(11) Publicerings- 457 143
nummer

(41) Ansökan allmänt tillgänglig 84-08-17

(22) Patentansökan inkom 84-02-16

(24) Löpdag 84-02-16

Ansökan inkommen som:

(62) Stamansökans nummer

☒ svensk patentansökan

(86) Internationell ingivningsdag

☐ fullföljd internationell patentansökan
med nummer(86) Ingivningsdag för ansökan
om europeiskt patent☐ omvandlad europeisk patentansökan
med nummer

(30) Prioritetsuppgifter

83-02-16 CH 858/83

(71) SÖKANDE Sigma Tau Industrie Farmaceutiche Riunite SpA Rom IT

(72) UPPFINNARE A Bertelli , Milano

(74) OMBUD Stenhagen patentbyrå AB

(54) BENÄMNING Farmaceutisk komposition med metabolisk, antianoxisk och väv
nadsenergetisk aktivitet innehållande coenzym Q₁₀ och
karnitin eller acetylkarnitin

(56) Anförda publikationer: - - -

(57) Sammandrag:

Uppfinningen avser en farmaceutisk komposition inne-
hållande karnitin eller acetylkarnitin och koenzym Q₁₀ i
förhållanden från 100:1 till 2:1, tillsammans med farmaceutiskt
fördragbara utdrygningsmedel.

Den beskrivna farmaceutiska kompositionen lämpar sig för
behandling av vävnadsenergetiska och metaboliska sjukdomar,
i synnerhet i hjärta och blodkärl, vilka inträffar i ateroskle-
ros, insufficiens i hjärtmuskel och koronarkärl, hypertension,
hjärnischemi och i allmänhet syrebrist i vävnader.



(



PATENTVERKET

(44) Ansökan utlagd och utlägg- 88-12-05
ningsskriften publicerad(11) Publicerings- 457 143
nummer

(41) Ansökan allmänt tillgänglig 84-08-17

(22) Patentansökan inkom 84-02-16

(24) Löpdag 84-02-16

Ansökan inkommen som:

(62) Stamansökans nummer

☒ svensk patentansökan

(86) Internationell ingivningsdag

☐ fullföljd internationell patentansökan
med nummer(86) Ingivningsdag för ansökan
om europeiskt patent☐ omvandlad europeisk patentansökan
med nummer

(30) Prioritetsuppgifter

83-02-16 CH 858/83

(71) SÖKANDE Sigma Tau Industrie Farmaceutiche Riunite SpA Rom IT

(72) UPPFINNARE A Bertelli, Milano

(74) OMBUD Stenhagen patentbyrå AB

(54) BENÄMNING Farmaceutisk komposition med metabolisk, antianoxisk och väv
nadsenergetisk aktivitet innehållande coenzym Q₁₀ och
karnitin eller acetylkarnitin

(56) Anförda publikationer: - - -

(57) Sammandrag:

Uppfinningen avser en farmaceutisk komposition inne-
hållande karnitin eller acetylkarnitin och koenzym Q₁₀ i
förhållanden från 100:1 till 2:1, tillsammans med farmaceutiskt
fördragbara utdrygningsmedel.

Den beskrivna farmaceutiska kompositionen lämpar sig för
behandling av vävnadsenergetiska och metaboliska sjukdomar,
i synnerhet i hjärta och blodkärl, vilka inträffar i ateroskle-
ros, insufficiens i hjärtmuskel och koronarkärl, hypertension,
hjärnischemi och i allmänhet syrebrist i vävnader.

Föreliggande uppfinning avser en ny farmaceutisk komposition innehållande en kombination av produkter som användes vid vävnadsmetaboliska energetiska biokemiska processer såsom koenzym Q_{10} och karnitin eller acetylkarnitin. Företrädesvis innehåller kompositionen enligt uppfinningen karnitin (eller acetylkarnitin) i L-form.

Som bekant utgöres karnitin av β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörtsyra, medan koenzym Q_{10} betecknar 2,3-dimetoxi-5-metyl-6-dekaprenyl-bensokinon.

Kompositionen enligt uppfinningen är i stånd att åstadkomma en effektiv terapeutisk verkan i fråga om att förhindra och behandla aterosklerotiska fenomen, hjärtmuskel- och kärlkransartärinsufficiens samt hypertension och i allmänhet patologiska tillstånd på grund av syrebrist i vävnaderna (anoxi).

L-karnitin härleder sig från lysin och erhålles genom omvandling av ϵ -N-trimetyl-lysin till γ -butyrobetain under inverkan av hydroxylas- och protein-metyl-transferas-system.

Redan år 1952 konstaterade man (Carter et al.-Arch. Biochem. Biophys. 38-405-1952) att larver av typen *Tenebrio molitor* dog på grund av fettansamling i frånvaro av karnitin. Förklaringen härtill har man funnit genom biokemiska iakttagelser av karnitinets funktion. Karnitin kan i själva verket acetyleras på bekostnad av acetyl-CoA och kan stimulera oxidationen av fettsyror (Friedman S., Fraenkel G. - Arch. Biochem. Biophys., 59-491-1955).

Eftersom karnitin kan mottaga acylgruppen hos acyl-CoA, är det också i stånd att bibringa detta koenzym sina katalytiska funktioner och i synnerhet för den kretska cykeln för att därigenom utöva en energetisk funktion (Siliprandi N.-Biochem. J., 96-777-1965).

Koenzym Q_{10} spelar också en betydelsefull roll i den cell-energetiska metabolismen.

Koenzym Q_{10} tjänstgör i själva verket som bärare av kraftigt rörliga elektroner mellan flavoproteinerna och cytokromerna i anordningssystemet (Morton R.A., Nature 182-1764-1958; Gale P. et al., Arch, Biochem, Biophys., 93-211-1961).

Processerna för betaoxidation av fettsyror äger rum i mitokondrierna och kräver FAD och NAD som enzymer, vilka oxideras på nytt medelst andningssystemet, i vilket koenzym Q_{10} verkar som ett väsentligt element.

Fettsyror måste i sin tur överföras till acyl-karnitin för att kunna passera genom den mitokondriska hinnan.

I korthet låter därför karnitin acylgrupperna passera genom den mitokondriska hinnan.

Karnitinsystemet är därför ett skyttelsystem, genom vilket acyl-CoA kan passera in i och ut ur mitokondrium utan att behöva använda energi. Sedan de en gång befinner sig inom mitokondrium oxideras acyl-CoA-erna genom β -oxidationsprocessen.

De biokemiska processer som vid de olika metaboliska stegen binder verkan både av karnitin och koenzym Q och som visar det nära ömsesidiga beroendet av dessa båda olika system för den cellulära, vävnadsmässiga och metaboliska energetiska funktionen, har också sin motsvarighet i den biologiska iakttagelsen bland de olika aktiviteterna, som både karnitin och koenzym Q är i stånd att utöva.

Med hjälp av kompositionen enligt uppfinningen har det varit möjligt att iakttaga den synergism som dessa båda substanser ger på nivån för hjärtmuskeln's funktionella kapacitet och kranskärlcirkulationen och på nivån för ändringar i fettmetabolismen och kärlens nivå.

Följande farmakologiska tester visar aktiviteten av den nya farmaceutiska kompositionen och framhåller den synergistiska effekt som erhålles genom användning av denna komposition.

En annan aspekt av den synergism som blir resultatet av kombinationen mellan karnitin och koenzym Q, är relaterad till dessa båda föreningars aktivitet i fråga om att förebygga många patologiska tillstånd såsom t.ex. syrebrist i vävnader. Å ena sidan är karnitin genom betaoxidationen av fettsyror i själva verket i stånd att återställa de energitillförselar som är nöd-

vändiga för cellernas liv, medan koenzym Q är i stånd att återställa de ATP-tillförselar som behövs för cellens energetiska metaboliska processer.

Den senare med koenzym Q förbundna verkan kan möjligen tillskrivas inträde på kalciumjonernas nivå och en blockering av deras inträde på mitokondriums nivå, vilken skulle leda till en minskning av ATP-nivåerna och även aktivering av proteinaserna, som senare leder till förstöring av cellstrukturer.

Föreliggande uppfinning är emellertid icke bunden till kontrollen av de hittills visade biologiska mekanismerna.

TOXIKOLOGISKA TESTER

Varken karnitin eller koenzym Q har själva någon toxicitet, om de administreras tillsammans per os på djur, vilket varit möjligt att fastställa genom ingivning av mycket höga doser av koenzym och L-karnitin på schweiziska möss och Wistar-råttor av båda könen. I själva verket ledde ingivning per os av 1 g koenzym Q tillsammans med 1 g, 2 g, 5 g karnitin icke till döden hos några av de sålunda behandlade djuren.

Icke ens parenteral ingivning av höga doser blandning av karnitin och koenzym Q gav någon toxisk effekt eller någon slags bristande tolerans, och det var icke möjligt att på samma sätt fastställa en signifikant mortalitet på djur vid injektion av en komposition innehållande 400 mg koenzym Q och 2 g karnitin.

Även kroniska toxikologiska tester (3 mån) utförda både på råttor av typen Sprague-Dawley och beaglehundar (100 mg koenzym Q och 500 mg karnitin/dag per os) bekräftade den höga toleransen och avsaknaden av toxicitet hos blandningen av koenzym Q och karnitin.

FARMAKOLOGISK TEST

TESTER PÅ AV PITREXIN FRAMKALLAD SYREBRIST I HJÄRTMUSKELN

Dessa tester visade hur syrebrist i hjärtmuskeln som framkallats av kranskärlspasmer i sin tur orsakade av venös administrering av pitrexin på råttor, kunde hämmas genom ingivning av en kombination av koenzym Q och karnitin jämfört med de båda enskilda komponenterna i kombinationen själv.

Venös injicering av 1 enhet/kg pitrexin på råtta orsakar kramp i kranskärlen med efterföljande minskad vaskularisation i koronarkärlen och hjärtmuskelsyrsättning som kan följas elektrokardiografiskt genom den karakteristiska T-vågen (Lindlers T-våg).

Av de utförda testerna var det möjligt att fastställa att ingivning av koenzym Q i motsats till ingivning av karnitin enbart minskar amplituden hos den T-våg som framkallas genom pitrexininjektionen, men att det med kombinationen av de båda läkemedlen (50 mg koenzym Q₁₀ och 250 mg karnitin i.p.) var möjligt att ernå att denna våg försvann virtueellt, dvs. en hämning av anoxiska vävnadsprocesser i hjärtmuskeln.

Det är därför tydligt att det föreligger synergism mellan karnitin och koenzym Q i fråga om aktiviteten.

I själva verket visar ingen råtta som behandlats med koenzym Q och karnitin, några förändringar mot T-vågen efter ingivning av pitroxin medan mer än 90 % av de råttor som behandlats med karnitin enbart och mer än 60 % av de råttor som behandlats med koenzym Q enbart visar elektrokardiografiska utslag beroende på syrebrist i hjärtmuskeln.

BESTÄMNING AV DEN ANTIANOXISKA CEREBRALA VERKAN

I syfte att bestämma den antianoxiska verkan även på hjärnans nivå användes kaniner som placerades i en trång lufttät bur, i vilken luften därefter ersattes genom tillförsel av kvävgas.

Vid återtillförsel av luft i buren kan djuret återhämta sig och återgå till det normala.

Det är möjligt att bestämma den antianoxiska verkan av en substans genom att jämföra de tider som är nödvändiga för att anoxiska elektroencefalografiska tecken skall framträda mellan kontroldjur och behandlade djur och den återhämtningstid som behövs för att åstadkomma ett normalt elektro-encefalogram sedan luft på nytt släppts in i buren. Den syrebrist som erhålles genom att successivt ersätta luften med kvävgas, ger upphov till elektro-encefalografiska förändringar, tills elektrisk tystnad uppnås; dessa förändringar går lätt att upptäcka på elektro-encefalogrammet.

Vid dessa tester kunde man fastställa att koenzym Q enbart (50 mg/kg i.p. eller 200 mg per os) kan framkalla en signifikant skillnad mellan kontrollgrupper och behandlade grupper av den tid som behövs för att cerebrala syrebristfenomen skall framträda och för att återhämtningstiden skall gå tillbaka till ett normalt elektro-encefalogram: dessa tider blir sålunda mycket mera signifikanta i det fall då karnitin kombineras med koenzym Q (250 mg/kg i.p. eller 500 mg per os), som i sig själv icke ger upphov till någon signifikant minskning av syrebristtiderna.

Av dessa tester framgår därför synergismen mellan koenzym Q₁₀ och karnitin tydligt. Även det vävnadssyrebriststillstånd som uppkommer då serotonin injiceras vid roten av råttans svans och ger upphov till kallbrand och nekros i själva svansen, kan utgöra en effektiv test för att mäta olika substansers antisyrebristkapacitet.

Under dessa försök injicerades en grupp Wistar-råttor dagligen med 10 mg/kg serotinsulfat vid roten av svansen. Medan en grupp djur användes som kontrollgrupp, mottog andra grupper av djur samtidigt antingen koenzym Q (100 mg/kg) enbart per os eller parenteralt (25 mg/kg) eller karnitin per os enbart (100 mg/kg) eller parenteralt (250 mg/kg). En annan grupp fick mottaga de båda produkterna i kombination tillsammans och parenteralt.

14 dagar efter det att behandlingen påbörjats, beräknades både tiden för framträdande av huddyskromasi i svansen samt kallbrand och nekros.

Icke hos några av de djur som behandlats med kombinationen av koenzym Q₁₀ och karnitin visade sig några tecken på kallbrand eller nekros i svansen ens efter 14 dagar, medan å andra sidan dessa tecken framträdde redan sju dagar efter det att administrationen av serotinsulfat påbörjats, i fråga om råttor behandlade med koenzym Q₁₀ och råttor behandlade med karnitin.

Även i detta fall framträder den av de båda kombinerade substanserna koenzym Q och karnitin tydligt.

ANTIHYPERTENSIV AKTIVITET

Råttor som gjorts hypertensiva på experimentell väg genom daglig tillförsel av 10 mg DOCA (deoxikortikosteron-acetat)

fem dagar i veckan under tre efter varandra följande veckor, användes.

Samtidigt administrerades en 1-procentig saltlösning på djuren.

En grupp av dessa djur behandlades, samtidigt med DOCA-lösningen, med koenzym Q enbart, med karnitin enbart, och med de båda produkterna i kombination i samma doser som angetts i föregående tester.

Efter tre veckors behandling visade gruppen av djur som behandlats med DOCA, värden på arteriellt tryck högre än 120 och grupperna av djur behandlade med de båda läkemedlen koenzym Q och karnitin i kombination visade inga signifikanta ändringar av det arteriella trycket jämfört med normala råttor, medan däremot ändringar kunde iakttagas både vid gruppen av djur behandlade med koenzym Q och vid gruppen av djur behandlade med karnitin; framförallt kunde ingen skillnad konstateras mellan gruppen som behandlats med karnitin och kontrollgruppen av hypertensiva råttor.

TESTER PÅ HÄMNING AV EXPERIMENTELLT FRAMKALLADE ATEROSKLEROTISKA SJUKLIGA FÖRÄNDRINGAR

Dessa tester syftade till att bestämma förmågan hos kombinationen av karnitin och koenzym Q i jämförelse med de båda produkterna ingivna var för sig, att förhindra uppkomst av sjukliga förändringar i kärlvävnader framkallade experimentellt på råttor genom ingivning av en aterogen hyperkolesteremisk diet med följande sammansättning: kasein 24%, bomullsfröolja 10%, salt 5%, socker 61%, kolesterol 0,5%, vitamin D₂ 200 mU/g diet.

Efter sex veckor på denna diet avlivades alla djuren efter hopblandning av deras plasmakolesterol, medan aorta och hjärta fixerades och underkastades histologisk undersökning.

Medan råttorna som behandlats med den hyperkolesteremiska och vitamin D₂-dieten enbart samt råttor behandlade med samma diet och karnitin visade tydliga ökningar av hyperkolesteremi och allvarliga sjukliga förändringar i aorta och hjärtmuskeln, visade gruppen av djur som behandlats med kombinationen av karnitin och koenzym Q (50 mg/kg koenzym Q per os, karnitin 500

mg/kg per os) avgjort lägre grad av sådana av dieten framkallade aterosklerotiska förändringar.

Uppfinningen hänför sig också till alla de aspekter som kan tillämpas i industrin som har anslutning till användning av ubikinon-karnitin-kombinationen inom kardiovaskulär terapi.

En grundläggande aspekt av uppfinningen utgör därför farmaceutiska kompositioner innehållande ett ubikinon-koenzym, företrädesvis koenzym Q₁₀, och karnitin eller acetylkarnitin, företrädesvis i L-former, i förhållanden som varierar från 1:100 till 1:2, samt andra lämpliga utdrygningsmedel i form av t.ex. kapslar, tabletter, piller, granulat, siraper, injicerbara lösningar.

Några icke begränsande exempel på farmaceutiska kompositioner som kan erhållas genom konventionella inom farmacin brukliga framställningsförfaranden, beskrives i det följande.

- Tabletter innehållande 500 mg acetyl-L-karnitin och 10 mg koenzym Q₁₀.
- Lockkapslar innehållande 500 mg L-karnitin och 5 mg koenzym Q₁₀.
- Lockkapslar innehållande 250 mg L-karnitin och 50 mg koenzym Q₁₀.
- Piller innehållande 50 mg L-karnitin och 25 mg koenzym Q₁₀.

PATENTKRAV

1. Farmaceutisk komposition med metabolisk, anti-anoxisk och vävnadsergetisk aktivitet, k ä n n e t e c k -
5 n a d a v att den innehåller 2,3-dimetoxi-5-metyl-6-deka-
prenyl-bensökinon (coenzym Q₁₀) och en kvaternär ammonium-
förening, som antingen utgöres av β -hydroxi- γ -trimetylamino-
smörsyra (karnitin) eller acetyl- β -hydroxi- γ -trimetylamino-
smörsyra (acetylkarnitin), eventuellt i kombination med
10 farmaceutiskt fördragbara utdrygningsmedel.
2. Farmaceutisk komposition enligt krav 1, k ä n -
n e t e c k n a d a v att den kvaternära ammoniumföreningen
utgöres av β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörsyra i L-form.
15
3. Farmaceutisk komposition enligt krav 1, k ä n -
n e t e c k n a d a v att den kvaternära ammoniumföreningen
utgöres av acetyl-L- β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörsyra.
- 20 4. Farmaceutisk komposition enligt krav 1-3, k ä n -
n e t e c k n a d a v att koenzymderivatet och den kvater-
nära ammoniumföreningen ingår i ett förhållande från 1:100
till 1:2.
- 25 5. Farmaceutisk komposition enligt krav 1-4 i form av
kapslar, tabletter, piller, granulat, siraper eller injicer-
bara lösningar.

L1 ANSWER 1 OF 1 WPINDEX COPYRIGHT 2003 THOMSON DERWENT on STN
 ACCESSION NUMBER: 1984-213521 [35] WPINDEX
 DOC. NO. CPI: C1984-089735
 TITLE: Cardiovascular medicaments - contg. ubiquinone and
 carnitine or acetyl-carnitine.
 DERWENT CLASS: B05
 INVENTOR(S): BERTELLI, A
 PATENT ASSIGNEE(S): (SEUR-N) SEUREF AG; (SIGT) SIGMA-TAU IND FARM RIUNITE SPA
 COUNTRY COUNT: 11
 PATENT INFORMATION:

PATENT NO	KIND	DATE	WEEK	LA	PG
BE 898918	A	19840816	(198435) *		9
GB 2137088	A	19841003	(198440)		
SE 8400851	A	19840917	(198440)		<--
NL 8400488	A	19840917	(198441)		
DE 3405581	A	19841018	(198443)		
DK 8400722	A	19840817	(198446)		
FR 2543827	A	19841012	(198446)		
JP 59186914	A	19841023	(198448)		
GB 2137088	B	19860205	(198606)		
CH 655005	A	19860327	(198617)		
US 4599232	A	19860708	(198630)		
SE 457143	B	19881205	(198851)		
IT 1170235	B	19870603	(198949)		
JP 02007572	B	19900219	(199011)		
DE 3405581	C	19921022	(199243)		4
NL 192778	B	19971001	(199744)		4

APPLICATION DETAILS:

PATENT NO	KIND	APPLICATION	DATE
BE 898918	A	BE 1984-898918	19840216
GB 2137088	A	GB 1984-3668	19840213
NL 8400488	A	NL 1984-488	19840215
DE 3405581	A	DE 1984-3405581	19840216
FR 2543827	A	FR 1984-2347	19840216
JP 59186914	A	JP 1984-26179	19840216
US 4599232	A	US 1984-578588	19840209
DE 3405581	C	DE 1984-3405581	19840216
NL 192778	B	NL 1984-488	19840215

PRIORITY APPLN. INFO: CH 1983-858 19830216



PATENTVERKET

(44) Ansökan utlagd och utlägg- 88-12-05
ningsskriften publicerad

(41) Ansökan allmänt tillgänglig 84-08-17

(22) Patentansökan inkom 84-02-16

(24) Lopdag 84-02-16

(62) Stamansökans nummer

(86) Internationell ingivningsdag

(86) Ingivningsdag för ansökan
om europeiskt patent(30) Prioritetsuppgifter
83-02-16 CH 858/83(11) Publicerings- 457 143
nummer

Ansökan inkommen som:

☒ svensk patentansökan☐ fullföljd internationell patentansökan
med nummer☐ omvandlad europeisk patentansökan
med nummer

- (71) SÖKANDE Sigma Tau Industrie Farmaceutiche Riunite SpA Rom IT
(72) UPPFINNARE A Bertelli , Milano
(74) OMBUD Stenhagen patentbyrå AB
(54) BENÄMNING Farmaceutisk komposition med metabolisk, antianoxisk och väv-
nadsenergetisk aktivitet innehållande coenzym Q₁₀ och
karnitin eller acetylkarnitin
(56) Anförda publikationer: - - -
(57) Sammandrag:

Uppfinningen avser en farmaceutisk komposition inne-
hållande karnitin eller acetylkarnitin och koenzym Q₁₀ i
förhållanden från 100:1 till 2:1, tillsammans med farmaceutiskt
fördragbara utdrygningsmedel.

Den beskrivna farmaceutiska kompositionen lämpar sig för
behandling av vävnadsenergetiska och metaboliska sjukdomar,
i synnerhet i hjärta och blodkärl, vilka inträffar i ateroskle-
ros, insufficiens i hjärtmuskel och koronarkärl, hypertension,
hjärnischemi och i allmänhet syrebrist i vävnader.



PATENTVERKET

(44) Ansökan utlagd och utlägg- 88-12-05
ningsskriften publicerad

(41) Ansökan allmänt tillgänglig 84-08-17

(22) Patentansökan inkom 84-02-16

(24) Löpdag 84-02-16

(62) Stamansökans nummer

(86) Internationell ingivningsdag

(86) Ingivningsdag för ansökan
om europeiskt patent(30) Prioritetsuppgifter
83-02-16 CH 858/83(11) Publicerings- 457 143
nummer

Ansökan inkommen som:

☒ svensk patentansökan☐ fullföljd internationell patentansökan
med nummer☐ omvandlad europeisk patentansökan
med nummer

- (71) SÖKANDE Sigma Tau Industrie Farmaceutiche Riunite SpA Rom IT
(72) UPPFINNARE A Bertelli , Milano
(74) OMBUD Stenhagen patentbyrå AB
(54) BENÄMNING Farmaceutisk komposition med metabolisk, antianoxisk och väv-
nadsenergetisk aktivitet innehållande coenzym Q₁₀ och
karnitin eller acetylkarnitin
(56) Anförda publikationer: - - -
(57) Sammandrag:

Uppfinningen avser en farmaceutisk komposition inne-
hållande karnitin eller acetylkarnitin och koenzym Q₁₀ i
förhållanden från 100:1 till 2:1, tillsammans med farmaceutiskt
fördragbara utdrygningsmedel.

Den beskrivna farmaceutiska kompositionen lämpar sig för
behandling av vävnadsenergetiska och metaboliska sjukdomar,
i synnerhet i hjärta och blodkärl, vilka inträffar i ateroskle-
ros, insufficiens i hjärtmuskel och koronarkärl, hypertension,
hjärnischemi och i allmänhet syrebrist i vävnader.

Föreliggande uppfinning avser en ny farmaceutisk komposition innehållande en kombination av produkter som användes vid vävnadsmetaboliska energetiska biokemiska processer såsom koenzym Q_{10} och karnitin eller acetylkarnitin. Företrädesvis innehåller kompositionen enligt uppfinningen karnitin (eller acetylkarnitin) i L-form.

Som bekant utgöres karnitin av β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörtsyra, medan koenzym Q_{10} betecknar 2,3-dimetoxi-5-metyl-6-dekaprenyl-bensokinon.

Kompositionen enligt uppfinningen är i stånd att åstadkomma en effektiv terapeutisk verkan i fråga om att förhindra och behandla aterosklerotiska fenomen, hjärtmuskel- och kärlkransartärinsufficiens samt hypertension och i allmänhet patologiska tillstånd på grund av syrebrist i vävnaderna (anoxi).

L-karnitin härleder sig från lysin och erhålles genom omvandling av ϵ -N-trimetyl-lysin till γ -butyrobetain under inverkan av hydroxylas- och protein-metyl-transferas-system.

Redan år 1952 konstaterade man (Carter et al.-Arch. Biochem. Biophys. 38-405-1952) att larver av typen *Tenebrio molitor* dog på grund av fettansamling i frånvaro av karnitin. Förklaringen härtill har man funnit genom biokemiska iakttagelser av karnitinets funktion. Karnitin kan i själva verket acetyleras på bekostnad av acetyl-CoA och kan stimulera oxidationen av fettsyror (Friedman S., Fraenkel G. - Arch. Biochem. Biophys., 59-491-1955).

Eftersom karnitin kan mottaga acylgruppen hos acyl-CoA, är det också i stånd att bibringa detta koenzym sina katalytiska funktioner och i synnerhet för den kretska cykeln för att därigenom utöva en energetisk funktion (Siliprandi N.-Biochem. J., 96-777-1965).

Koenzym Q_{10} spelar också en betydelsefull roll i den cell-energetiska metabolismen.

Koenzym Q_{10} tjänstgör i själva verket som bärare av kraftigt rörliga elektroner mellan flavoproteinerna och cytokromerna i anordningssystemet (Morton R.A., Nature 182-1764-1958; Gale P. et al., Arch, Biochem, Biophys., 93-211-1961).

Processerna för betaoxidation av fettsyror äger rum i mitokondrierna och kräver FAD och NAD som enzymer, vilka oxideras på nytt medelst andningssystemet, i vilket koenzym Q_{10} verkar som ett väsentligt element.

Fettsyror måste i sin tur överföras till acyl-karnitin för att kunna passera genom den mitokondriska hinnan.

I korthet låter därför karnitin acylgrupperna passera genom den mitokondriska hinnan.

Karnitinsystemet är därför ett skyttelsystem, genom vilket acyl-CoA kan passera in i och ut ur mitokondrium utan att behöva använda energi. Sedan de en gång befinner sig inom mitokondrium oxideras acyl-CoA-erna genom β -oxidationsprocessen.

De biokemiska processer som vid de olika metaboliska stegen binder verkan både av karnitin och koenzym Q och som visar det nära ömsesidiga beroendet av dessa båda olika system för den cellulära, vävnadsmässiga och metaboliska energetiska funktionen, har också sin motsvarighet i den biologiska iakttagelsen bland de olika aktiviteterna, som både karnitin och koenzym Q är i stånd att utöva.

Med hjälp av kompositionen enligt uppfinningen har det varit möjligt att iakttaga den synergism som dessa båda substanser ger på nivån för hjärtmuskeln funktionella kapacitet och kranskärlcirkulationen och på nivån för ändringar i fettmetabolismen och kärlens nivå.

Följande farmakologiska tester visar aktiviteten av den nya farmaceutiska kompositionen och framhåller den synergistiska effekt som erhålles genom användning av denna komposition.

En annan aspekt av den synergism som blir resultatet av kombinationen mellan karnitin och koenzym Q, är relaterad till dessa båda föreningars aktivitet i fråga om att förebygga många patologiska tillstånd såsom t.ex. syrebrist i vävnader. Å ena sidan är karnitin genom betaoxidationen av fettsyror i själva verket i stånd att återställa de energitillförselar som är nöd-

vändiga för cellernas liv, medan koenzym Q är i stånd att återställa de ATP-tillförselar som behövs för cellens energetiska metaboliska processer.

Den senare med koenzym Q förbundna verkan kan möjligen tillskrivas inträde på kalciumjonernas nivå och en blockering av deras inträde på mitokondriums nivå, vilken skulle leda till en minskning av ATP-nivåerna och även aktivering av proteinaserna, som senare leder till förstöring av cellstrukturer.

Föreliggande uppfinning är emellertid icke bunden till kontrollen av de hittills visade biologiska mekanismerna.

TOXIKOLOGISKA TESTER

Varken karnitin eller koenzym Q har själva någon toxicitet, om de administreras tillsammans per os på djur, vilket varit möjligt att fastställa genom ingivning av mycket höga doser av koenzym och L-karnitin på schweiziska möss och Wistar-råttor av båda könen. I själva verket ledde ingivning per os av 1 g koenzym Q tillsammans med 1 g, 2 g, 5 g karnitin icke till döden hos några av de sålunda behandlade djuren.

Icke ens parenteral ingivning av höga doser blandning av karnitin och koenzym Q gav någon toxisk effekt eller någon slags bristande tolerans, och det var icke möjligt att på samma sätt fastställa en signifikant mortalitet på djur vid injektion av en komposition innehållande 400 mg koenzym Q och 2 g karnitin.

Även kroniska toxikologiska tester (3 mån) utförda både på råttor av typen Sprague-Dawley och beaglehundar (100 mg koenzym Q och 500 mg karnitin/dag per os) bekräftade den höga toleransen och avsaknaden av toxicitet hos blandningen av koenzym Q och karnitin.

FARMAKOLOGISK TEST

TESTER PÅ AV PITREXIN FRAMKALLAD SYREBRIST I HJÄRTMUSKELN

Dessa tester visade hur syrebrist i hjärtmuskeln som framkallats av kranskärlspasmer i sin tur orsakade av venös administrering av pitrexin på råttor, kunde hämmas genom ingivning av en kombination av koenzym Q och karnitin jämfört med de båda enskilda komponenterna i kombinationen själv.

Venös injicering av 1 enhet/kg pitrexin på råtta orsakar kramp i kranskärnen med efterföljande minskad vaskularisation i koronarkärnen och hjärtmuskelsyrsättning som kan följas elektrokardiografiskt genom den karakteristiska T-vågen (Lindlers T-våg).

Av de utförda testerna var det möjligt att fastställa att ingivning av koenzym Q i motsats till ingivning av karnitin enbart minskar amplituden hos den T-våg som framkallas genom pitrexininjektionen, men att det med kombinationen av de båda läkemedlen (50 mg koenzym Q₁₀ och 250 mg karnitin i.p.) var möjligt att ernå att denna våg försvann virtueellt, dvs. en hämning av anoxiska vävnadsprocesser i hjärtmuskeln.

Det är därför tydligt att det föreligger synergism mellan karnitin och koenzym Q i fråga om aktiviteten.

I själva verket visar ingen råtta som behandlats med koenzym Q och karnitin, några förändringar mot T-vågen efter ingivning av pitroxin medan mer än 90 % av de råttor som behandlats med karnitin enbart och mer än 60 % av de råttor som behandlats med koenzym Q enbart visar elektrokardiografiska utslag beroende på syrebrist i hjärtmuskeln.

BESTÄMNING AV DEN ANTIANOXISKA CEREBRALA VERKAN

I syfte att bestämma den antianoxiska verkan även på hjärnans nivå användes kaniner som placerades i en trång lufttät bur, i vilken luften därefter ersattes genom tillförsel av kvävgas.

Vid återtillförsel av luft i buren kan djuret återhämta sig och återgå till det normala.

Det är möjligt att bestämma den antianoxiska verkan av en substans genom att jämföra de tider som är nödvändiga för att anoxiska elektroencefalografiska tecken skall framträda mellan kontrolldjur och behandlade djur och den återhämtningstid som behövs för att åstadkomma ett normalt elektro-encefalogram sedan luft på nytt släppts in i buren. Den syrebrist som erhålles genom att successivt ersätta luften med kvävgas, ger upphov till elektro-encefalografiska förändringar, tills elektrisk tystnad uppnås; dessa förändringar går lätt att upptäcka på elektro-encefalogrammet.

Vid dessa tester kunde man fastställa att koenzym Q enbart (50 mg/kg i.p. eller 200 mg per os) kan framkalla en signifikant skillnad mellan kontrollgrupper och behandlade grupper av den tid som behövs för att cerebrala syrebristfenomen skall framträda och för att återhämtningstiden skall gå tillbaka till ett normalt elektro-encefalogram: dessa tider blir sålunda mycket mera signifikanta i det fall då karnitin kombinerats med koenzym Q (250 mg/kg i.p. eller 500 mg per os), som i sig själv icke ger upphov till någon signifikant minskning av syrebristtiderna.

Av dessa tester framgår därför synergismen mellan koenzym Q₁₀ och karnitin tydligt. Även det vävnadssyrebriststillstånd som uppkommer då serotonin injiceras vid roten av råttans svans och ger upphov till kallbrand och nekros i själva svansen, kan utgöra en effektiv test för att mäta olika substansers antisyrebristkapacitet.

Under dessa försök injicerades en grupp Wistar-råttor dagligen med 10 mg/kg serotinsulfat vid roten av svansen. Medan en grupp djur användes som kontrollgrupp, mottog andra grupper av djur samtidigt antingen koenzym Q (100 mg/kg) enbart per os eller parenteralt (25 mg/kg) eller karnitin per os enbart (100 mg/kg) eller parenteralt (250 mg/kg). En annan grupp fick mottaga de båda produkterna i kombination tillsammans och parenteralt.

14 dagar efter det att behandlingen påbörjats, beräknades både tiden för framträdande av huddyskromasi i svansen samt kallbrand och nekros.

Icke hos några av de djur som behandlats med kombinationen av koenzym Q₁₀ och karnitin visade sig några tecken på kallbrand eller nekros i svansen ens efter 14 dagar, medan å andra sidan dessa tecken framträdde redan sju dagar efter det att administrationen av serotinsulfat påbörjats, i fråga om råttor behandlade med koenzym Q₁₀ och råttor behandlade med karnitin.

Även i detta fall framträder den av de båda kombinerade substanserna koenzym Q och karnitin tydligt.

ANTIHYPERTENSIV AKTIVITET

Råttor som gjorts hypertensiva på experimentell väg genom daglig tillförsel av 10 mg DOCA (deoxikortikosteron-acetat)

fem dagar i veckan under tre efter varandra följande veckor, användes.

Samtidigt administrerades en 1-procentig saltlösning på djuren.

En grupp av dessa djur behandlades, samtidigt med DOCA-lösningen, med koenzym Q enbart, med karnitin enbart, och med de båda produkterna i kombination i samma doser som angetts i föregående tester.

Efter tre veckors behandling visade gruppen av djur som behandlats med DOCA, värden på arteriellt tryck högre än 120 och grupperna av djur behandlade med de båda läkemedlen koenzym Q och karnitin i kombination visade inga signifikanta ändringar av det arteriella trycket jämfört med normala råttor, medan däremot ändringar kunde iakttagas både vid gruppen av djur behandlade med koenzym Q och vid gruppen av djur behandlade med karnitin; framförallt kunde ingen skillnad konstateras mellan gruppen som behandlats med karnitin och kontrollgruppen av hypertensiva råttor.

TESTER PÅ HÄMNING AV EXPERIMENTELLT FRAMKALLADE ATEROSKLEROTISKA SJUKLIGA FÖRÄNDRINGAR

Dessa tester syftade till att bestämma förmågan hos kombinationen av karnitin och koenzym Q i jämförelse med de båda produkterna ingivna var för sig, att förhindra uppkomst av sjukliga förändringar i kärlvävnader framkallade experimentellt på råttor genom ingivning av en aterogen hyperkolesteremisk diet med följande sammansättning: kasein 24%, bomullsfröolja 10%, salt 5%, socker 61%, kolesterol 0,5%, vitamin D₂ 200 mU/g diet.

Efter sex veckor på denna diet avlivades alla djuren efter hopblandning av deras plasmakolesterol, medan aorta och hjärta fixerades och underkastades histologisk undersökning.

Medan råttorna som behandlats med den hyperkolesteremiska och vitamin D₂-dieten enbart samt råttor behandlade med samma diet och karnitin visade tydliga ökningar av hyperkolesteremi och allvarliga sjukliga förändringar i aorta och hjärtmuskeln, visade gruppen av djur som behandlats med kombinationen av karnitin och koenzym Q (50 mg/kg koenzym Q per os, karnitin 500

mg/kg per os) avgjort lägre grad av sådana av dieten framkallade aterosklerotiska förändringar.

Uppfinningen hänför sig också till alla de aspekter som kan tillämpas i industrin som har anslutning till användning av ubikinon-karnitin-kombinationen inom kardiovaskulär terapi.

En grundläggande aspekt av uppfinningen utgör därför farmaceutiska kompositioner innehållande ett ubikinon-koenzym, företrädesvis koenzym Q₁₀, och karnitin eller acetylkarnitin, företrädesvis i L-former, i förhållanden som varierar från 1:100 till 1:2, samt andra lämpliga utdrygningsmedel i form av t.ex. kapslar, tabletter, piller, granulat, siraper, injicerbara lösningar.

Några icke begränsande exempel på farmaceutiska kompositioner som kan erhållas genom konventionella inom farmacin brukliga framställningsförfaranden, beskrives i det följande.

- Tabletter innehållande 500 mg acetyl-L-karnitin och 10 mg koenzym Q₁₀.
- Lockkapslar innehållande 500 mg L-karnitin och 5 mg koenzym Q₁₀.
- Lockkapslar innehållande 250 mg L-karnitin och 50 mg koenzym Q₁₀.
- Piller innehållande 50 mg L-karnitin och 25 mg koenzym Q₁₀.

PATENTKRAV

1. Farmaceutisk komposition med metabolisk, anti-anoxisk och vävnadsergetisk aktivitet, k ä n n e t e c k -
5 n a d a v att den innehåller 2,3-dimetoxi-5-metyl-6-deka-prenyl-bensokinon (coenzym Q₁₀) och en kvaternär ammoniumförening, som antingen utgöres av β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörtsyra (karnitin) eller acetyl- β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörtsyra (acetylkarnitin), eventuellt i kombination med
10 farmaceutiskt fördragbara utdrygningsmedel.
2. Farmaceutisk komposition enligt krav 1, k ä n -
n e t e c k n a d a v att den kvaternära ammoniumföreningen
15 utgöres av β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörtsyra i L-form.
3. Farmaceutisk komposition enligt krav 1, k ä n -
n e t e c k n a d a v att den kvaternära ammoniumföreningen
utgöres av acetyl-L- β -hydroxi- γ -trimetylamino-smörtsyra.
- 20 4. Farmaceutisk komposition enligt krav 1-3, k ä n -
n e t e c k n a d a v att koenzymderivatet och den kvaternära ammoniumföreningen ingår i ett förhållande från 1:100 till 1:2.
- 25 5. Farmaceutisk komposition enligt krav 1-4 i form av kapslar, tabletter, piller, granulat, siraper eller injicerbara lösningar.